

VÉRCUKORSZINT MEGHATÁROZÁSA

A szervezet szénhidrát-anyagcseréjének tanulmányozásában központi helyet foglal el a vércukorszint vizsgálata. A szervezet normál vércukorszintje - az ún. éhgyomri érték - szűk határok között ingadozik. Ez az érték emberben, vér plazmában mérve 3,5 - 5,5 mM. A szervezet szénhidrát szükségletének kielégítése a felvett táplálékkal nem egyenletes, hasonlóképpen nem egyenletes a szervezet szénhidrát felhasználása sem. Az ingadozások kiegyenlítésére különböző (idegi és hormonális) kontrollmechanizmusok szolgálnak, amelyeket részletesen a biokémia tankönyv tárgyal. Enyhén emelkedett éhgyomri (12-16 óra éhezés után mért) vércukor érték esetén a diabetes mellitus ill. a csökkent glükóz tolerancia teljes bizonyossággal nem diagnosztizálható. Ilyen esetben a glükóz tolerancia teszt segíthet a diagnózisban. A biztos diagnózis érdekében meghatározzuk a beteg vércukor koncentrációját reggel étkezés előtt, majd az orális glükózterhelést (300ml vízben oldott 75g glükóz) követően. Egészséges egyedben a vér glükóz koncentrációja glükóz terhelés után 1 órával a legmagasabb, míg a kétórás érték 7.8 mM alá csökken. Csökkent glükóz tolerancia esetén a glükóz terhelést követő 1,5 ill. 2 óra elteltével is a fiziológiásnál jelentősen magasabb értéket kapunk. Az orvosi gyakorlatban az éhgyomri vércukorérték, valamint a cukorterhelésre fellépő változások mértéke és időtartama együttesen képezi a diabetes diagnózisának alapját (lásd a diagnosztikus kritériumokat tartalmazó táblázatot a gyakorlat végén). A vércukor meghatározásra korábban több módszert használtak. A korszerűbb módszerek kidolgozása több ok miatt vált szükségessé. Részben azért, mert így a mérés nagyszámú mintából is gyorsan elvégezhető, másrészt az új módszerrel az eljárás specifikus lett glükózra.

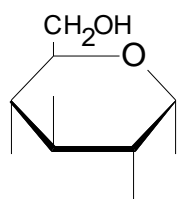
Az idők folyamán kiderült ugyanis, hogy diagnosztikai értékelés szempontjából az alkalmazott módszer nem közömbös, éspedig két okból:

a) A vérben a monoszacharidokon kívül más redukáló anyagok is vannak, pl. húgysav, kreatinin. Az általuk okozott ún. "reszt-redukció" miatt (redukciós vércukor meghatározási módszer esetén) a vércukorszint értéke a valódi glükóz koncentrációnál magasabb. Ez az érték glükózra számítva kb. 10-20 mg %-ot tesz ki. A diagnosztikában az okozhat zavart, hogy a részt-redukció mértéke a redukción alapuló vércukor meghatározási módszerekben eltérő, a más elven alapuló meghatározásokban pedig egyáltalán nem jut érvényre.

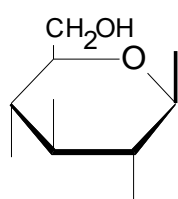
b) A vérben a glükózon kívül más monoszacharidok is vannak. A kémiai módszerek nem glükózra, hanem egyesek redukáló monoszacharidokra, mások - pl. az o-toluidines eljárás - aldózokra specifikusak. A meghatározott "glükóz"-érték tehát fruktózt, galaktózt, pentózt stb. is magában foglalhat. Általában a vér glükóz tartalma mellett az egyéb monoszacharidok mennyisége csekély, és külön értékelése nem lényeges, mert a szervezet ezeket a szénhidrátokat is képes glükóz formájában értékesíteni. A glükóz specifitás problémája akkor merül fel, ha szénhidrát-anyagcsere rendellenességgel állunk szemben. A galaktozémias beteg vére pl. azért tartalmaz sok galaktózt, mert a táplálékkal felvett galaktózt nem tudja glükózzá átalakítani és szervezetében felhasználni. Pedig a galaktóz valamennyi kémiai meghatározási módszerben növeli a vércukor értékét, és lehetséges, hogy hiperglikémia mutatkozik, holott a valóságban glükózra vonatkoztatva normo- vagy éppen hipoglikémiás a szervezet. Ilyen esetekben van nagy jelentősége a glükózra specifikus enzimatisz módszereknek.

A glükózra specifikus enzimatisz vércukor meghatározási módszerekkel nyert értékek természetesen nem foglalnak magukban részt-redukciót, de fő előnyük nem ebben, hanem glükóz specifitásukban rejlik.

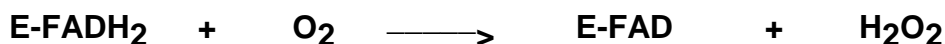
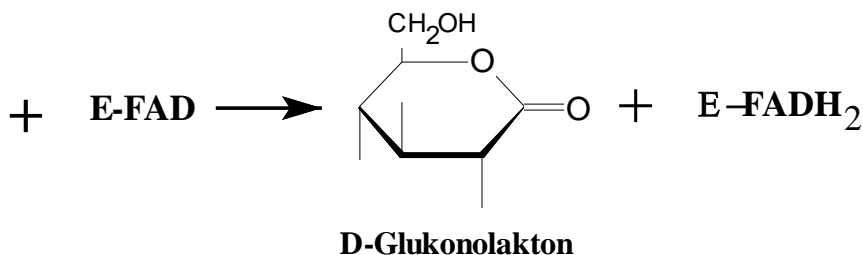
Az enzimátikus vércukor meghatározás elve: a glukóz oxidáz (EC. I.I.3.4.) egy penészgombákból izolálható flavoprotein, specifikusan katalizálja a glukóz dehidrogenálását glukonsavvá:



α -D-Glukóz



β -D-Glukóz



Az α -D-glukóz \rightarrow β -D-glukóz átalakulást katalizáló mutarotáz penészgombákban szintén megtalálható. A glukóz oxidáz reakcióban keletkező H_2O_2 -ot a peroxidáz (EC. I.II.1.7.) bontja és egy indikátor reakcióban a 4-aminoantipirinnel fenol jelenlétében színes kondenzációs termék keletkezik. Az abszorbancia növekedés arányos a minta glukóz koncentrációjával.

Az enzimátikus eljáráshoz szükséges reagenseket készen hozzák forgalomba, és papír teszként is alkalmazzák.

—

VÉR PLAZMA GLUKÓZ TARTALMÁNAK MEGHATÁROZÁSA GLUKÓZ OXIDÁZZAL

Glukóz koncentrációt határozunk meg a glukóz terhelést követő 0, 30, 60, 90 és 120 perckor levett vérből készített szérumból, normál és diabéteszes paciensenél.

Oldatok:

- 1.) glukóz-reagens (Diagnosticum Zrt.)
amely tartalmazza a glukóz-oxidázt, a peroxidázt valamint a kromogén anyagot 0,1 M foszfátpufferben (pH: 7,4)
- 2.) ismert koncentrációjú glukóz-standard oldat: C_{standard}

A gyakorlat kivitelezése:

Számozott kémcsövekbe állítsuk össze a következő reakcióelegyeket:

(2-szer 5-ös sorozat a normál és csökkent glukóz toleranciájú egyedből származó plazma minták számára + glukóz standard +vak)

Plazma minta	1	2	3	4	5	6	7
0perc;µl	20						
30perc;µl		20					
60perc;µl			20				
90perc;µl				20			
120perc;µl					20		
Glukóz standard;µl						20	
H ₂ O; µl							20
Glukóz reagens; ml	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0

Inkubálás 37 °C-on, 10 percig.

Leolvasás fotométeren: 505 nm.

$$\text{Plazma glukóz (mM)} = \frac{A_{\text{minta}}}{A_{\text{standard}}} * C_{\text{standard}}$$

A gyakorlat értékelése:

	0'	30'	60'	90'	120'
Abszorbancia (paciens#1)					
Plazma glukóz, mM (paciens#1)					
Abszorbancia (paciens#2)					
Plazma-glukóz, mM (paciens#2)					

A "Diabetes Expert Committee" javaslata a standard glukóz tolerancia teszt kiértékeléséhez:

	Normál Glukóz Tolerancia	Csökkent Glukóz Tolerancia	Diabetes Mellitus
Éhgyomri plazma glukóz (mM)	<5.5	5.5-6.9	≥7.0
A terhelést követő 2. órában mért plazma glukóz (mM)	< 7.8	≥ 7.8–11.0	≥ 11.1

Amennyiben az éhgyomri plazma glukóz ≥ 7.0 mM, megismételt mérés esetén az eredmény diagnózisa diabetes. A kevéssé emelkedett éhgyomri glukóz (5.5-6.9 mM) indikálja a standard orális glukóz tolerancia teszt elvégzését (a beteg éhgyomorra 75 g glukózt iszik 300 mL vízben oldva, továbbá a vizsgálatot megelőző 3 napon a szénhidrát fogyasztása legalább 150-200g). A teszt eredménye megerősíti a diabetes diagnózisát, amennyiben a plazma glukóz koncentrációja a 2. órában mérve 11.1 mM vagy ennél magasabb. A 7.8-11.0 mM tartományban mért értékek csökkent glukóz toleranciát jelentenek (IGT).